フラクションコレクタ付 LC と GC/MS による 土壌中の石油系炭化水素の分析

アプリケーション

環境分析

著者

Wei Luan and Chuanhong Tu
Agilent Technologies (Shanghai) Co., Ltd.
412 Ying Lun Road
Waigaoqiao Free Trade Zone
Shanghai 200131
P. R. China

Michael Woodman
Agilent Technologies, Inc.
2850 Centerville Road
Wilmington DE 19808
USA

要約

原油で汚染された土壌中の石油系炭化水素 (TPH) を順相液体クロマトグラフ (NPLC) とキャピラリガスクロマトグラフ/質量分析装置を用いて分析しました。本論文では、まずサンプル中のパラフィン類と芳香族および多環芳香族化合物を、極性に従って NPLC により分離、分取し、GC/MS で分離と同定を行いました。

緒言

石油流出による汚染は、世界中で頻繁に起こります。汚染源を明確に同定することは、クリーンアップ費用や環境被害に対する責任を明確化する上で重要です。流出は、風化 (分解または蒸発)、化学分解 (日光、熱、空気、土壌化学などの影響)、生物学的変化 (微生物の影響) などによる時間をベースにした変化に左右されるため、これらの影響をマッピングすることがますます重要になってきました。環境マトリックス中の TPH の総合的な評価分析を行うための様々な方法が開発されてきました。DIN 38 409 H18 [1] は、赤外分光光度計を使用した公式メソッドです。Robert [2] らは、総合的な 2 次元ガスクロマトグラフを導入し、石油流出の風化を追跡記録しました。現場での短時間分析で、分離されないクロマトから TPH の濃度を測定するための GC/MS メソッドとして発表されました。

Sjaak [3] らは、LC x GC-TOF MS による、鉱物油サンプルのグループ化を行い、特徴付けを導入しました。LC と GC/MS のインタフェースは上部にサンプルの出入口を備えた100 µL シリンジから構成され、注入装置に設置されています。また、GC/MS 分析中には LC のストップフローモードが採用されました。

本論文では、フラクションコレクタを使用し、HPLC と GC/MS 間の複雑なインタフェースをなくし、NPLC と GC/MS を組み合わせて、原油で汚染された土壌中の TPHの分析を行いました。

実験

機器構成および条件

Agilent 1200 シリーズ LC、構成内容:

G1379B	マイクロデガッサ
G1312B	バイナリポンプ SL
G1367C	高性能オートサンプラ SL
G1316B	カラム恒温槽 SL 6 または 10 ポート、2 ポジション切換バルブ付き
G1315C	UV/Vis ダイオードアレイ検出器 SL
G1364C	フラクションコレクタ (分析スケール)

ChemStation 32 ビット、バージョン B.02.01-SR1

Agilent 6890GC、5975B MSD、構成内容:

G1540N	6890N ネットワーク GC システム、オプション内容: 201 MSD インタフェース
G3243A	5975B inert MSD/DS 高性能ターボ EI バンドル
G3397A	5975 MSD イオンゲージ/コントローラ付き
G2913A	7683B オートインジェクタモジュール
G2614A	7683 オートサンプラトレイモジュール

MSD ChemStation バージョン D.03.00、NIST 05 MS ライブラリバージョン 2.0d 付き

LC および GC/MS の条件は表 1 に記載されています。

サンプル前処理

原油サンプルは、中国・大慶の油田から産出した物で、Sinopec Shanghai Gaoqiao Petrochemical Corporation からご提供いただきました。

試料は、この油サンプル 1 g をブランクの土壌サンプルと混合し、2 日間、換気フード内で保管したものを使用しました。試料に、ヘキサン 50 mL を加え、1 時間、超音波槽でサンプルを抽出しました。抽出物をろ過し、ろ液 10 mL をピペットで取り、窒素気流下で蒸発させました。その後、ヘキサンで抽出物を 1 mL にメスアップして、この溶液を NPLC に注入して分析しました。

NPLC のカラムスイッチングバルブとフラクションコレクタの操作

原油サンプルは非常に複雑なため、カラムスイッチングバルブを使用して、NPLC システムの分析カラムをバックフラッシュしました。ASTM メソッド D6379 と D6591 で概略が述べられているように、すべてのグループの化合物のリテンションタイムをおおよそ評価するために、シクロヘキサン、o- キシレン、ジベンゾチオフェン、9- メチルアントラセンから成るシステムキャリブレーションのための標準試料が使用されました。システムキャリブレーション標準試料の分離は、図 1 のとおりです。トータル分析時間を最小限に抑えるために、最初の 3 分の LC 溶出物は廃棄しています。その後、フラクションコレクタで、0.5 分ごとにフラクションが収集されました。対象化合物を含むフラクションの収集後、クリーニングのために、バックフラッシュモードに切り換えられ、ベースラインが安定した後、LC 分析を終了しました。

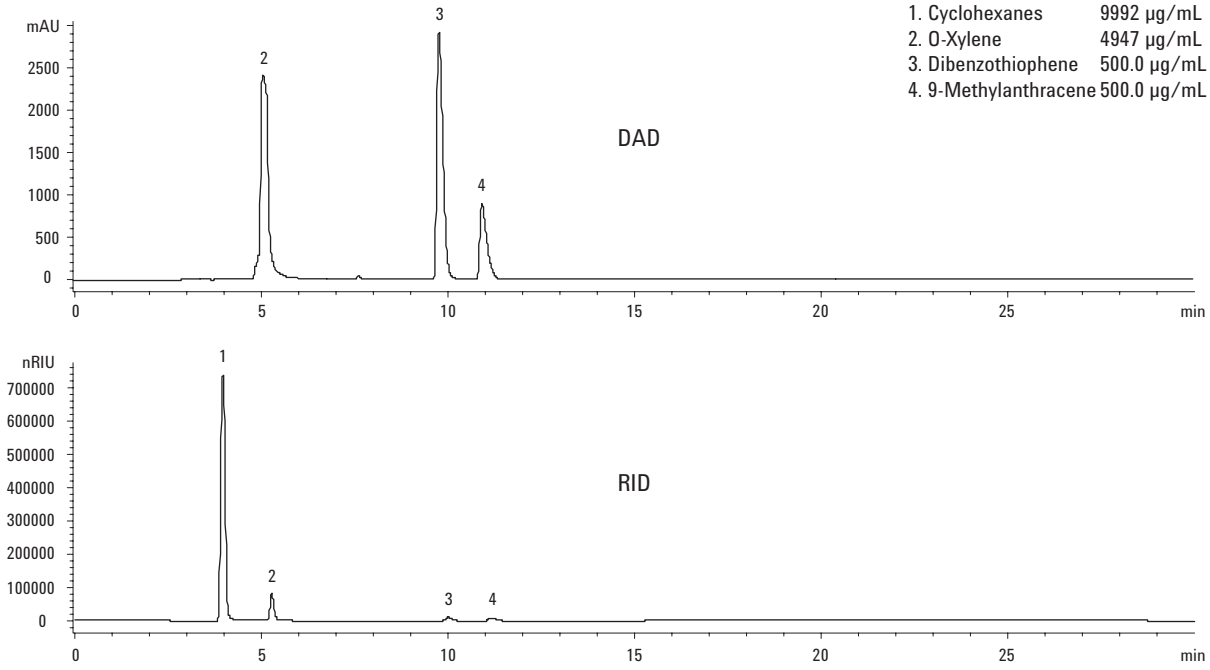
結果と考察

土壌サンプル抽出物は、図 2 に示すとおり、順相液体クロマトグラフによって様々なグループに分離されました。合計 23 のフラクションが収集され、これらは、成分同定のために GC/MS システムに注入されました。代表的なパラフィン類と芳香族炭化水素化合物類のトータルイオンクロマトグラム (TIC) は、それぞれ図 3 に示しています。マススペクトルによる同定から、LC クロマトグラフで 3.4 ～ 4.7 分の範囲のリテンションタイムを持つ最初のグループはパラフィン類を含み、4.7 ～ 6.2 分の範囲のリテンションタイムを持つ 2 番目のグループは、単環芳香族化合物を含み、6.2 ～ 11.2 分の範囲のリテンションタイムを持つ 3 番目のグループは、二環芳香族化合物を含み、11.2 ～ 13.7 分の範囲のリテンションタイムを持つ 4 番目のグループは、三環芳香族化合物を含んでいました。13.7 分から最後までの範囲のリテンションタイムでは、芳香族化合物類は溶出しませんでした。

表 1.　LC および GC/MS の条件

LC	**Agilent 1200SL**		
移動相	ヘキサン		
流量	0.8 mL/min		
波長	210 nm		
注入量	100 µL		
モード	アイソクラティック		
カラム	Agilent ZORBAX NH_2		
	4.6 mm x 250 mm、5 µm		
分析時間	30 分		
カラム温度	35 °C		
カラム切換バルブ	バックフラッシュオフ		
カラム切換タイムテーブル	時間	カラム	
	15.00 分	バックフラッシュオン	
	30.00 分	バックフラッシュオフ	
フラクショントリガモード	タイムテーブルを使用		
フラクションコレクタタイムテーブル	時間	トリガモード	時間スライス
	3.70 分	時間ベース	0.5 分
	15.00 分	オフ	–
GC	**Agilent 6890N**		
	7683 オートインジェクタおよびトレイ		
オートインジェクタ			
サンプル洗浄	3		
サンプルポンプ	6		
注入量	1 µL		
シリンジサイズ	5 µL		
事前注入　溶媒　A	0		
事前注入　溶媒　B	3		
事後注入　溶媒　A	0		
事後注入　溶媒　B	3		
粘度ディレイ	0 秒		
プランジャ速度	高速		
事前注入デュエルタイム	0 分		
事後注入デュエルタイム	0 分		
サンプリング深度	無効		

注入口	**EPC**
注入タイプ	スプリットレス
注入口温度	250 °C
圧力	7.61 psi
パージ流量	50.0 mL/min
パージ時間	0.75 分
総流量	54.0 mL/min
ガスセーバ	オン
セーバ流量	20.0 mL/min
セーバ時間	2.00 分
ガスタイプ	ヘリウム
オーブン	
初期温度	50 °C
初期時間	1.00 分
ランプ速度	30.00 °C/min
最終温度	300 °C
最終保持	2.00 分
総分析時間	11.33 分
平衡時間	0.5 分
カラム	
タイプ	HP 5-ms
長さ	30 m
径	0.25 mm
膜厚	0.25 µm
モード	定流量
初期流量	1.0 mL/min
MSD	**Agilent**
	5975B inert
溶媒ディレイ	4 分
チューンファイル	Atune.U
モード	スキャン
溶媒ディレイ	3.00 分
EM 電圧	オートチューン電圧
低質量	45.0 amu
高質量	450.0 amu
スレッショルド	150
サンプリング	2
スキャン	3.54
四重極温度	150 °C
イオン源温度	230 °C
トランスファライン温度	280 °C



Mobile phase	Hexanes
Flow rate	0.8 mL/min
Detection	DAD and RID
UV wavelength	210 nm
Analysis time	30 min (backflush @ 15 min)
Column	Agilent ZORBAX NH_2 4.6 x 250 mm, 5 µm
Method	Follow ASTM D6379 (or D6591)
Sample	System Calibration Standard
Sample size	10 µL
Column temperature	35 °C

図 1.　　標準溶液のクロマトグラム

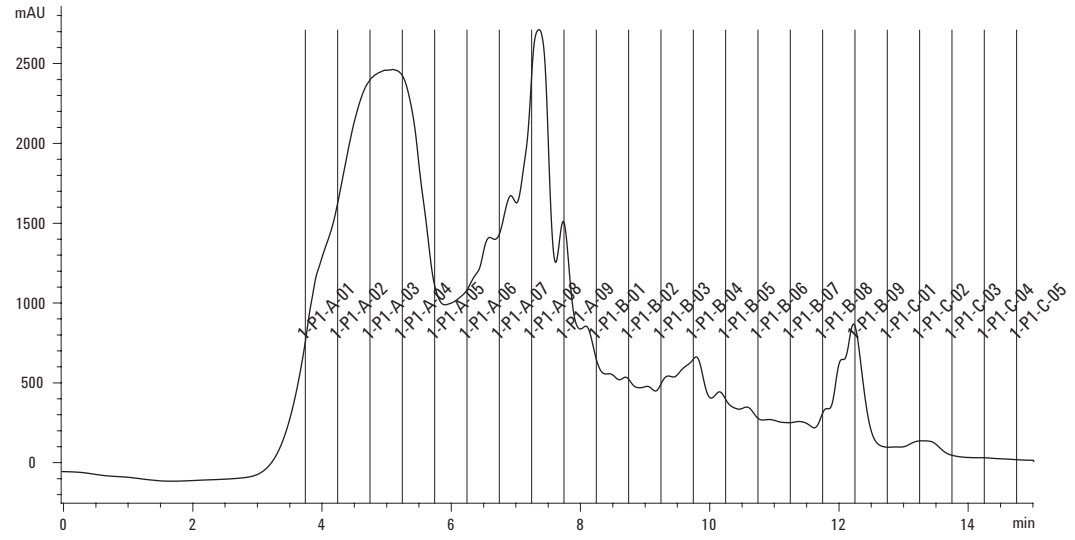


図 2.　　別のバイアルに収集された土壌サンプル抽出物とフラクションのクロマトグラム

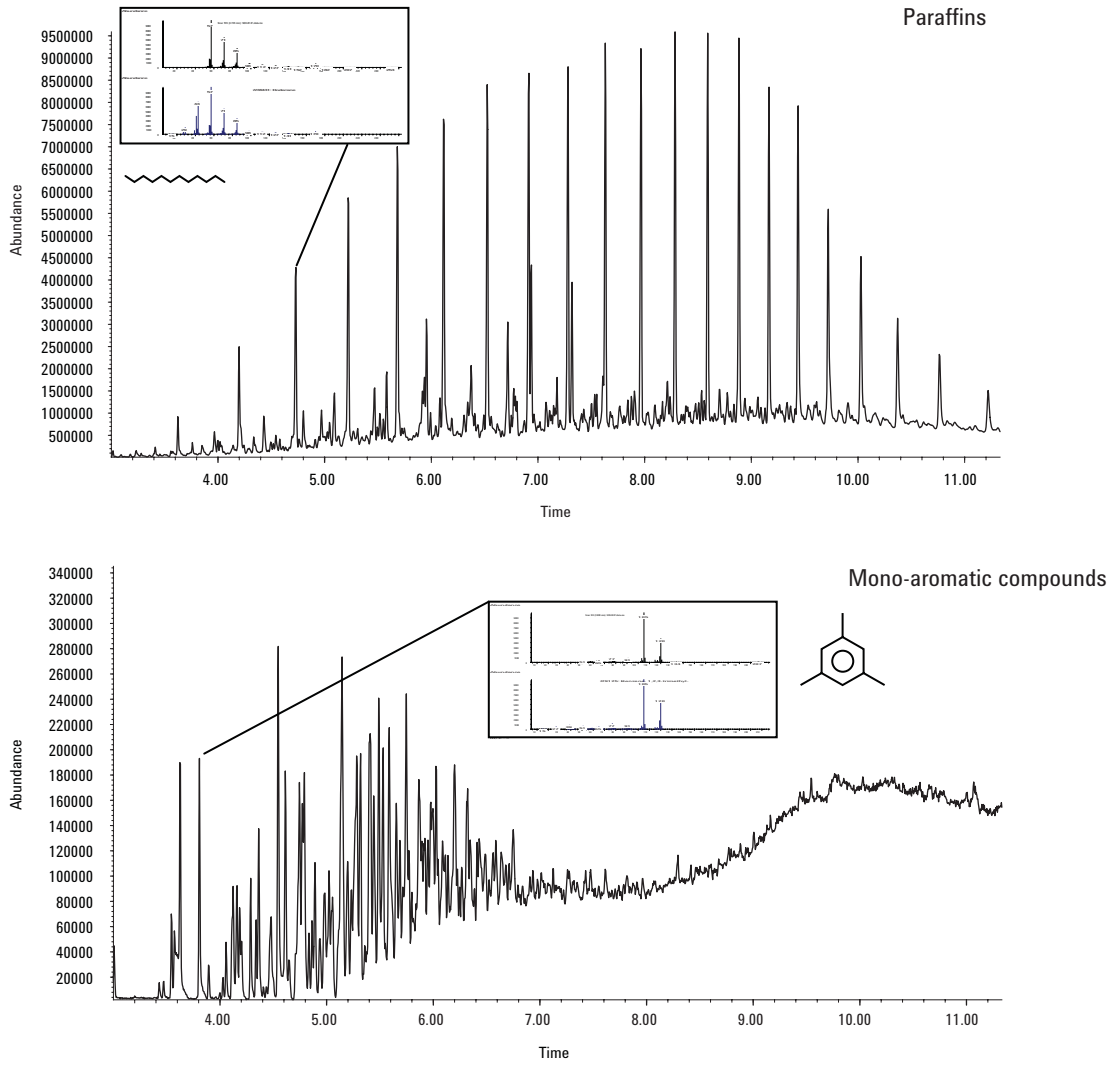


図 3.　　パラフィン類と、芳香族炭化水素化合物類を含む、代表的なフラクションの全イオンクロマトグラム

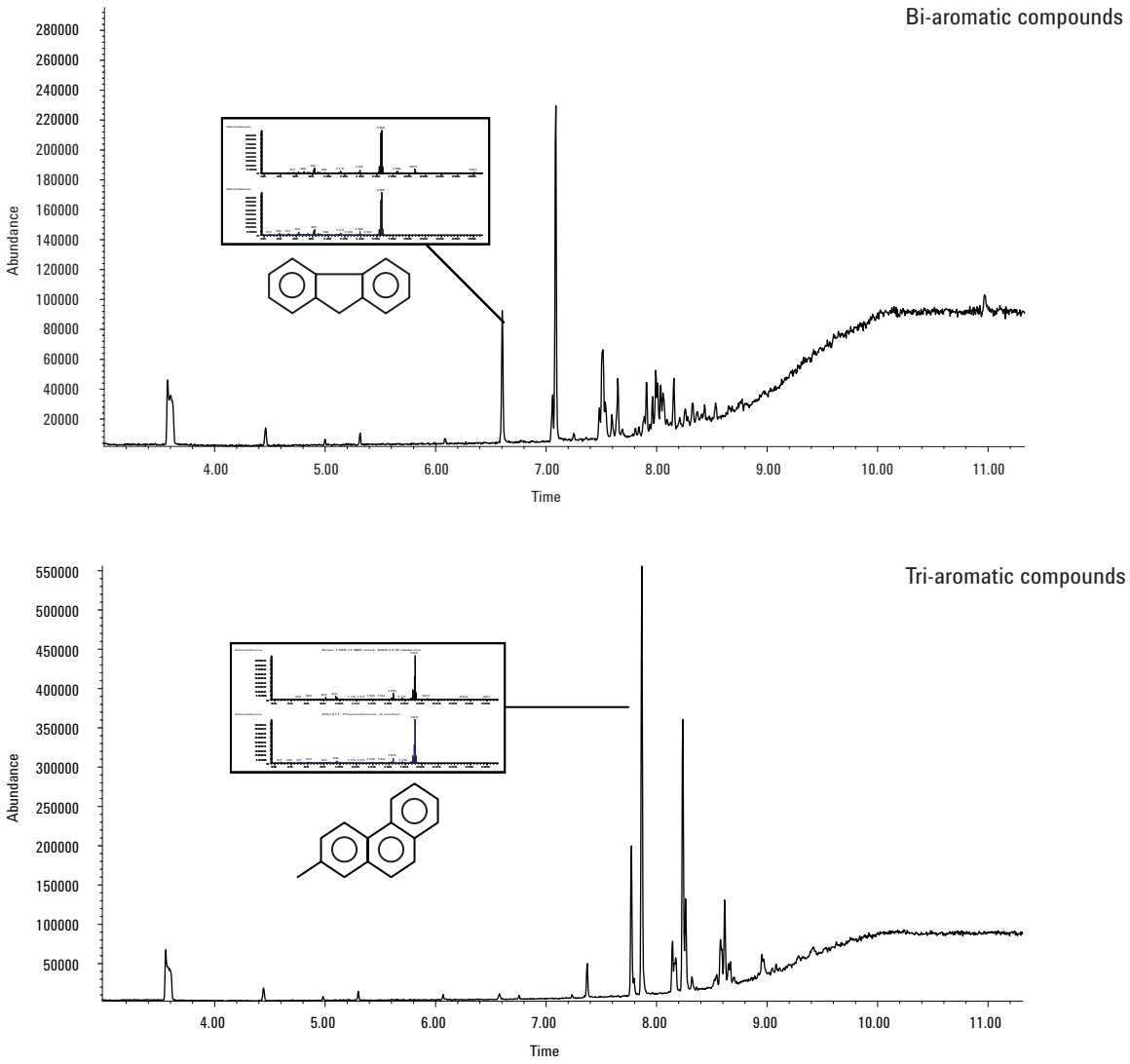


図 3.　　パラフィン類と、芳香族炭化水素化合物類を含む、代表的なフラクションの全イオンクロマトグラム (続き)

	バイアル位置	時間スライス
パラフィン	1-P1-A-01	3.7 ～ 4.2 分
単環芳香族化合物	1-P1-A-04	5.2 ～ 5.7 分
二環芳香族化合物	1-P1-B-04	9.7 ～ 10.2 分
三環芳香族化合物	1-P1-B-08	11.7 ～ 12.2 分

結論

NPLC と GC による分離は、それぞれ極性と沸点に基づいています。マススペクトルは分子構造に関する情報を提供することができるため、NPLC と GC/MS の組み合わせにより、複雑なマトリックスを評価することができました。本論文では、フラクションコレクタ付き LC により、数種類のパラフィン類と単環、二環、三環芳香族化合物類の分離と、個々のサンプルバイアルへの時間ベースのフラクションの収集を行いました。それぞれのフラクションは GC/MS で同定しました。このメソッドでは、原油に汚染された土壌サンプルを分析し、その結果、極性によるフラクションに基づくすべての代表的な種類の詳細成分情報が示され、土壌中の全石油系炭化水素類が分析できました。

参考文献

1. Deutsche Einheitsverfahren zur Wasser-, Abwasser- und Schlammuntersuchung, “Summarische Wirkungs- und Stoffkenngrößen, Bestimmung von Kohlenwasserstoffen (H18),” Deutsche Industrie Normen DIN, Beuth Verlag, Berlin 1981.
2. Robert K. Nelson, Tracking the Weathering of an Oil Spill with Comprehensive Two-Dimensional Gas Chromatography, Environmental Forensics, 7:33-44, 2006.
3. Sjaak de Koning, Group-type characterisation of mineral oil samples by two-dimensional comprehensive normal-phase liquid chromatography-gas chromatography with time-of-flight mass spectrometric detection, *Journal of Chromatography A*, 1058:217-221, 2004.

詳細情報

弊社の製品およびサービスに関する詳細情報は、ホームページ www.agilent.com/chem/jp をご覧ください。

www.agilent.com/chem/jp

本資料に含まれる情報は研究目的専用です。

アジレントは、本資料に誤りが発見された場合、また、本資料の使用により付随的または間接的に生じる損害について一切免責とさせていただきます。また、本資料掲載の機器類は薬事法に基づく登録は行っておりません。

本資料に記載の情報、説明、製品仕様等は予告なしに変更されることがあります。著作権法で許されている場合を除き、書面による事前の許可なく、本資料の複製、翻案、翻訳することは禁じられています。

© Agilent Technologies, Inc. 2007

Printed in Japan
April 9, 2007
5989-6012JAJP

Agilent Technologies